Aus der Universitäts-Kinderklinik zu Göttingen.
Direktor: Professor Dr. Beumer.

Lane Medical Library
1931

Untersuchungen über den Lipasegehalt des Kaninchenblutes bei Fütterung großer Vigantoldosen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Medizinischen Fakultät
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Richard Schwerdt.

1931.
Druck der Molkereizeitungs-Druckerei, Hildesheim.

Decan: Professor Dr. G. Gruber.
Referent: Professor Dr. Beumer.

Gedruckt mit Genehmigung der Medicinischen Facultät
der Georg-August Universität, Göttingen.

Untersuchungen über den Lipasegehalt des Kaninchenblutes bei Fütterung großer Vigantoldosen.

Die Rachitis wurde vor noch nicht allzu langer Zeit für eine reine Erkrankung des Knochensystems gehalten. Erst ihre chemisch-biologische Durchforschung brachte uns die wichtige Erkenntnis, daß wir es hier in Wahrheit mit einer Stoffwechselkrankheit zu tun haben.

Howland, Mariott und Kramer [1]) fanden im Blutserum des Rachitikers eine Verschiebung des Verhältnisses vom Calcium zum Phosphor, die zu einer Hypophosphataemie führt. Die Erniedrigung der CO_2 Werte [2]) im Blut bei normalen pH Zahlen wies ferner auf eine kompensierte Störung im Säurebasenhaushalt hin, die sich durch den Befund verstärkter Ausscheidung von organischen Säuren [3]) [4]) und Ammoniak [5]) [6]) als eine Acidose aufklärte.

Einen weiteren bedeutsamen Einblick in die tiefgreifenden intermediären Stoffwechselstörungen boten Veränderungen, die man im Fermenthaushalt aufdeckte. Freudenberg und Welker [7]) glaubten wegen der Ketosebereitschaft des rachitischen Organismus eine Störung im Kohlehydratabbau postulieren zu müssen, da von den Kohlehydraten die stärkste antiketogene Wirkung ausgeht. Sie fanden sie in seiner Hemmung bezw. völligen Behinderung der ersten anaeroben Abbauphase der Kohlenwasserstoffe, der Glykose.

In ursächlichem Zusammenhang damit steht die ebenfalls von György [8]) gefundene Hypolactacidaemie, da die Milchsäure im Blut in erster Linie aus der Glykolyse der Gewebe herrühren dürfte. Die oben beschriebene Verlangsamung der oxydativen Abbauprozesse und auch die Glykolysehemmung wiederum sind wohl mit einiger Sicherheit mit der Hypophosphataemie in Beziehung zu setzen; denn das Phosphation [9])-[12]) spielt im Organismus eine wichtige Rolle bei der Förderung von Oxydationsprozessen und ist auch zur Glykolyse unbedingt erforderlich. Nach Meyerhoff [13]) nämlich bildet sich bei der anäroben Glykogenspaltung die Hexosediphosphorsäure, das Lactacidogen. Dieses zerfällt dann weiter unter Abspaltung von Phosphorsäure und Traubenzucker in Milchsäure. Somit ist auch, wie schon gesagt, die rachitische Hypolactacidämie erklärt.

Adam [14]) stellte im Urin rachitischer Kinder eine verstärkte Ausscheidung des diastatischen Fermentes fest. Dies weist auch auf hormonale Störungen hin. Da bei Diabetes mellitus und experimentell ein Parallelgehen von Diastaseausscheidung und innerer Sekretion des Pankreas wahrscheinlich ist, wird durch obiges Ergebnis die Annahme nahegelegt, daß die Hormonproduktion bei der Rachitis gesteigert ist. Diese steht im Antagonismus zu denjenigen innersekretorischen Drüsen wie Nebenniere, Schilddrüse, Hypophyse, Thymus und Geschlechtsdrüsen, deren Funktionsanomalie bei Rachitis angenommen wird. So bedeutet die Hyperproduktion des Pankreashormons eine Hemmung der durch die anderen Drüsen gestörten Glykogenmobilisierung der Leber. Das bedeutet Kohlehydrathunger der Gewebe und unzureichende Oxydation infolge Brennstoffmangels, d. h. wiederum Acidose. Für diese Störung im Hormonhaushalt würde auch ein Befund von Beumer und Schäfer [15]) sprechen, nach welchen bei Rachitis eine erhöhte Ansprechbarkeit der Glykogenmobilisierug durch Adrenalin mit Hyperglykämie vorhanden ist.

Im Blut hat Adam keine Veränderungen des Diastasespiegels gefunden. Auch das lipolytische Vermögen des Blutserums wird wie Beumer und Fontaine [16]) in einer Arbeit über die Beziehungen der Serumlipase zu den Ernährungsstörungen und anderen Erkrankungen des Kindesalters erwähnen, selbst bei schwerer Rachitis nicht verändert. Dagegen hat Dodds [17]) im Stuhl vom Rachitiker erheblich mehr nicht gespaltenes Fett festgestellt, als bei gesunden gleichartig ernährten Kindern. Er führt dies auf einen Mangel an Lipase im Darmsaft zurück und sucht den Grund in einer Störung des Pankreas, denn dieses liefert das Ferment, das die Fettspaltung im Darm und somit erst die Verseifung der Fette ermöglicht.

Die letzten fünfzehn Jahre brachten auch die Erkenntnis von der engen Beziehung, die zwischen der Rachitis und dem Vitamin D [18]) besteht. Das Vitamin D greift gleichsam regulierend in die gestörten Vorgänge ein, so daß man nur genügend Vitamin zuführen braucht, um die Krankheit definitiv heilen zu können. Mit Huldschinskys [19]) [20]) epochemachender Entdeckung, daß man rachitische Kinder durch ultraviolette Strahlen heilen kann, wurde die Forschung in bestimmte Bahnen gelenkt, die in relativ kurzer Zeit weitgehende Aufschlüsse über die Entstehung des Vitamin D brachte. Pohl [21]), Heß und Windaus [22]) fanden in gemeinsamer Arbeit mit Rosenheim und Webster [23]) in dem Ergosterin die Muttersubstanz, das Provitamin, aus der bei der Bestrahlung mit Ultravioletttlicht der rachitisheilende Faktor entsteht. Sie gaben uns damit ein überragendes Heilmittel gegen die englische Krankheit in die Hand, das besonders in einer öligen Lösung als Vigantol in den Handel kam.

Bald machte man aber auch die Erfahrung, daß man durch Überdosierung mit bestrahlten Ergosterinpräparaten schwerste Vergiftungen verursachen kann. So beschrieben als erster Pfannstiel [24]) und etwas später Kreitmair und Moll [25]) bei Versuchstieren nach großen Vigantolgaben eine sehr starke Ab-

magerung, Durchfälle, Rauhwerden des Haarkleides und schließlich Exitus in hochgradig marantischem Zustand. Pathologisch-anatomisch sahen sie dabei eine außerordentlich reiche Kalkablagerung an disponierten Stellen, besonders der Blutgefäßwandungen, der Herzmuskulatur, der Magenwand, der Lungen, Nieren usw. Bei diesen gewaltigen Veränderungen war der Befund starker intermediärer Stoffwechselveränderungen zu erwarten. György fand im Blut eine Störung des Calcium-Phosphorstoffwechsels im umgekehrten Sinne wie bei der Rachitis, nämlich eine enorme Steigerung des Calciumspiegels während der Phosphorspiegel nur wenig ansteigt. Thoenes [27]), [28]) sah neben den eben genannten Veränderungen eine erhöhte Stickstoffausscheidungg im Urin und bei Gasstoffwechseluntersuchungen eine Steigerung des Sauerstoffverbrauches und der Kohlensäureproduktion. Dies spricht für eine starke Beschleunigung des Gesamtstoffwechsels nach großen Gaben bestrahlten Ergosterins.

Wegen dieses tiefgreifenden, sehr schnell und rapide eintretenden Umschwungs im Stoffwechsel schien es interessant, einmal den Einfluß großer Vigantoldosen auf den Fermenthaushalt zu untersuchen.

Wegen der engen Beziehung des ultravioletten Lichtes zu dem Vitamin D wählten wir, angeregt durch Pinkussen, zu unserer im folgenden geschilderten Untersuchung die Serumlipase. Ausgehend von Arbeiten Hertels [29]) und Reinolds Green [30]), die in vitro eine Schwächung der Diastase bezw. Amylase gefunden hatten, untersuchte Pinkussen [31]) die Beeinflussung der Fermente durch Licht. Auch er sah bei Quarzlicht eine Schwächung der verschiedensten Fermente. Für die Serumlipase speziell stellte er eine vorübergehende Steigerung der lipolytischen Wirkung fest, die aber bei etwas größeren Dosen ultravioletten Lichtes bald in eine fast völlige Hemmung umschlug. Die Schädigung der Lipase war aber nicht allein im Reagenzglas möglich. Bestrahlte man ein Kaninchen einige

Zeit, so zeigte sein Serum eine erhebliche Abnahme des lipolytischen Vermögens, die aber bald nach der Belichtung wieder verschwand. Röntgenstrahlen, die in vitro auf die Lipase nicht einwirkten, setzten die Lipolyse im Serum eines bestrahlten Tieres ebenfalls erheblich herab. Hier nimmt die Verminderung der Fettspaltung noch mehrere Tage nach der Bestrahlung zu. Ob der Agriffspunkt beider Strahlenarten derselbe ist, wurde bisher nicht geklärt. Wenn man die in einer Arbeit von Pinkussen und Coelho geäußerte Meinung, die Lipase entstamme der inneren Sekretion, anerkennt, könnte man annehmen, daß die penetrationsfähigeren Röntgenstrahlen die Bildungsstätte der Lipase selbst treffen und so nachhaltiger schädigen, während die an der Oberfläche adsorbierten ultravioletten Strahlen durch Veränderungen in der Haut das angeblich die Lipasesecretion regelnde parasympathische System beeinflussen und so nur vorübergehend wirken.

Das klinisch markanteste Symptom der Vigantolvergiftung die extreme Abmagerung und insbesondere der starke Fettschwund ließ es uns außerdem möglich erscheinen, daß auch das lipolytische Ferment dabei eine Rolle spielen könnte.

Bei unseren Versuchen verfütterten wir an zwei ausgewachsene Kaninchen täglich durch die Sonde anfänglich 1 ccm 1 % Vigantolöls, was 10 mg bestrahltem Ergosterin entspricht. Aus einem später zu erwähnenden Grunde wurde die Dosis bei dem ersten Tier am 14., beim zweiten Tier am 20. Tage sogar verdoppelt. 24 Stunden nach jeder Fütterug wurde dann der Lipasespiegel im Blut kontrolliert.

Zur Feststellung desselben wurde die von Rona und Michaelis [32]) angegebene stalagmometrische Methode benutzt. Sie beruht auf der physikalischen Eigenschaft der Fette in Wasser gelöst die Oberflächenspannung erheblich zu erniedrigen. Werden die Fette in Wasser gespalten, so erhöht sich die Oberflächenspannung der Lösung wieder, weil die Spalt-

produkte. Glycerin und Fettsäuren, keinen Einfluß auf die Oberflächenspannung haben.

Nach den Angaben der Autoren nimmt man am besten ein niederes Fett, das Triglycerid der Buttersäure, das Tributyrin, welches zum Teil in Wasser löslich ist. Da eine Änderung der Reaktion sowohl nach der sauren wie nach der alkalischen Seite die Fettspaltung beeinflußt, setzt man noch ein Phosphatpuffergemisch zu. Zu Beginn stellt man die Oberflächenspannung der Lösung durch die Tropfenzahl des Traubeschen Stalagmometers fest. Darauf bringt man den lipasehaltigen Stoff, in unserem Falle Blutserum, in die Lösung. In Abständen von 15 zu 15 Minuten zählt man die Tropfen. Die Geschwindigkeit der Spaltung, kenntlich an der Abnahme der Tropfenzahl ist in guter Annäherung proportional der Fermentmenge. Da die Geschwindigkeit der Spaltung fast konstant ist, so kann man die Größe dieser Konstanten als Maß für die Lipasemenge benutzen.

Bei unseren zwei Tieren wurden anfangs die Normalwerte der Lipase im Blutserum festgestellt. Diese waren während drei Tagen gleich. Dann wurde täglich das Vigantol gegeben und täglich der Lipasespiegel im Blut bestimmt. Gleichzeitig wurde jeden Tag das Gewicht der Tiere festgestellt.

Es ergaben sich dabei folgende zwei Tabellen:

Tabelle I.

Graues Tier.

	Konstante	Gewicht
ohne Vig.	0,00501	2750
Tag n. V.		
1	0,00476	2750
2	0,00482	2750
3	0,00565	2690
4	0,00538	2640
5	0,00478	2670
6	0,00502	2610
7	0,00503	2630
8	0,00415	2660
9	0,00390	2630
10	0,00422	2600
11	0,00409	2660
12	0,00413	2570
13	0,00356	2580
14	0,00398	2540
Verdoppelte Vig.-Dosis		
15	0,00458	2450
16	0,00517	2350
17	0,00465	2150
18	0,00643	1920

Tabelle II.

Schwarzweißes Kaninchen.

	Konstante	Gewicht i. g.
ohne V.	0,00596	2520
Tag n. V.		
1	0,00495	2490
2	0,00512	2410
3	0,00385	2350
4	0,00254	2280
5	0,00279	2300
6	0,00303	2290
7	0,00325	2230
8	0,00342	2200
9	0,00489	2170
10	0,00230	2150
11	0,00228	2140
12	0,00324	2060
13	0,00354	2060
14	0,00151	2010
15	0,00438	2010
16	0,00503	2000
17	0,00422	1970
18	0,00217	1980
29	0,00352	2000
20	0,00189	1980
Verdopp. Vig.-Dosis		
21	0,00511	1980
22	0,00457	1930
23	0,00371	1880
24	0,00296	1880
25	0,00275	1820
26	0,00381	1790
27	0,00388	1750

Das erste Tier ging nach 18 Tagen, das zweite erst am 27. Tage nach Beginn der Fütterung mit Vigantol unter dem Bilde der schwersten Kachexie zugrunde. Wie in anderen Arbeiten schon beschrieben, nahm das Gewicht der Tiere dauernd ab. Das Fell wurde struppig, die Freßlust immer geringer. In den letzten Tagen bekamen die Tiere Durchfälle und eine starke eitrige Rhinitis und Konjunktivitis. Auch die anatomischen Veränderungen entsprachen nach den Untersuchungen von Herrn Professor Gruber im Göttinger Pathologischen Institut den schon früher beschriebenen.

Der Lipasespiegel blieb beim ersten Tier nach einer unbedeutenden Steigerung am dritten und vierten Tag bis zum 7. Tage annähernd gleich. Dann fiel er etwas ab bis zum 14. Tage. Um zu sehen, ob eine weitere Verstärkung der Dosis einen größeren Ausschlag geben würde, wurde nun die Vigantolmenge verdoppelt. Darauf stieg die Spaltungsfähigkeit des Serums wieder zur Norm, um am letzten Tage vor dem Tode sogar über den Ausgangswert hinauszugehen. Beim zweiten Tier nimmt die lipolytische Wirkung des Serums bis zum vierten Tage ziemlich schnell und viel stärker als beim ersten Tiere ab. Dann aber steigt sie wieder langsam bis zum neunten Tage an und fällt am 10. plötzlich stark ab. Nun wird die Kurve ganz unregelmäßig, abnorm niedrige Werte wechseln in kurzen Intervallen mit fast normalen ab. Das Bild verliert jede Gleichsinnigkeit zu der ersten Kurve. Nach der Verdoppelung der Dosis am 20. Tage steigt der Lipasespiegel fast bis zum Ausgangswert, um dann im Gegensatz zur ersten Kurve wieder erheblich abzufallen. Kurz ante exitum kommt es wieder zu einer Steigerung, die aber den Anfangswert nicht erreicht.

Diese beiden Kurven sind sehr verschiedenartig. Eine Auswertung kann daher nur mit allergrößter Reserve vorgenommen werden. Wie die Lebensdauer und die große Verschiedenheit in der Stärke der an sich gleichsinnigen anatomi-

schen Veränderungen, welche nach dem Sektionsprotokoll zur Lebensdauer nicht direkt in Beziehung zu stehen scheinen, beweisen, ist die Reaktion und Empfindlichkeit gegenüber der toxischen Vigantoldosis auch individuell sehr verschieden. Dies ist auch von den Autoren, die zuerst über die Toxikologie des bestrahlten Ergosterins berichteten, beobachtet worden. So haben auch die beiden Lipasespiegelkurven in unseren Tierversuchen nur wenig Ähnlichkeit miteinander.

Aus den Versuchen geht unserer Meinung nach hervor, daß Vigantol in hohen Dosen bei oraler Anwendung im Gegensatz zur Ultraviolettbestrahlung von Pinkussen keinen im gleichen Sinne zu deutenden Einfluß auf die Serumlipase der Kaninchen hat. Eine Steigerung, die man eventuell wegen des starken Fettschwundes erwarten könnte, liegt jedenfalls nicht vor. Die bei beiden Kaninchen in ganz verschiedenem Ausmaß zu beobachtende anfängliche Abnahme der Lipase ähnlich zu deuten wie die Abnahme nach Ultravioletlicht, geht nicht an wegen der dann folgenden Schwankungen.

Ob die geschilderten, wenn auch uncharakteristischen Schwankungen des Lipasespiegels auf den rachitisheilenden Faktor des bestrahlten Ergosterins zu beziehen sind, erscheint nach neueren Erkenntnissen sehr fraglich. Denn heute wissen wir aus Arbeiten von Windaus[33]) und Holtz[34]) u. a., daß sich Bestrahlungsprodukte des Ergosterins herstellen lassen, die rein toxisch wirken, ohne eine rachitisheilende Eigenschaft zu entfalten. Es gelingt, wenn man ultraviolett bestrahlte Ergosterinpräparate altern läßt, ohne sie in Öl gelöst zu haben oder sie längere Zeit auf 200° unter Luftabschluß erhitzt. Dieses Prinzip, das schon vor seiner Isolierung von Heubner[35]) als „Calcinosefaktor" bezeichnet worden ist, macht alle Erscheinungen des vermeintlichen Vitamins D außer der Rachitisheilung, also P- und Ca-Steigerung im Serum, Organverkalkung, Kreislaufschädigung, exzessive Abmagerung und Exitus.

Während der Versuche wurde dies bekannt. Es ist daher die Frage, ob wir es bei den geschilderten Veränderungen des Lipasespiegels im Blut nach großen Vigantolgaben mit einer Vitaminwirkung oder einer Auswirkung des Calcinosefaktors zu tun haben.

Literatur.

[1]) Howland, Mariott, Kramer, Journ. of biol. Chem., 1926, 721.

[2]) György, Falkenheim, Kappes, Kruse, Zeitschr. f. Kinderheilkunde, 41 (1926), S. 711—726.

[3]) A. Hottinger, Monatsschrift f. Kinderheilkunde, 1925, II.

[4]) Landsberger, Zeitschrift für Kinderheilkunde, 39, 1925.

[5]) Niemann, Jahrbuch für Kinderheilkunde, 85, 1917, S. 210.

[6]) Freudenberg u. György, Münchener med. Wochenschr., 1922, Nr. 12.

[7]) Freudenberg u. Welker, Zeitschrift f. Kinderheilkunde, 41, S. 466.

[8]) György, Versammlung südwestdeutscher und niederrheinischer Kinderärzte, Wiesbaden, 1926.

[9]) Embden-Lange, Klinische Wochenschrift, 1924.

[10]) Meyerhof, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 12, 1918.

[11]) György, Klinische Wochenschrift, 1922, Nr. 4.

[12]) Warburg, Ergebnisse der Physiologie, 1914.

[13]) Meyerhoff, Klinische Wochenschrift, 1922, I, 230.

[14]) Adam, Monatsschrift f. Kinderheilkunde, 27, 1924, S. 425.

[15]) Beumer u. Schäfer, Zeitschrift f. Kinderheilkunde, 28, 1922.

[16]) Beumer u. Fontaine, Monatsschrift f. Kinderheilkunde, Bd. 19.

[17]) Dodds, Brit. med. Journ., IV, 1922, S. 511.

[18]) György, Behandlung und Verhütung der Rachitis u. Tetanie, 1929.

[19]) Huldschinsky, Deutsche med. Wochenschrift, 1919, S. 577.

[20]) Huldschinsky, Zeitschrift f. Chirurgie, 1920, S. 426.

[21]) Pohl, Nachrichten d. Gött. Ges. d. Wissensch. Math. phys. Klasse, 1926, 134 u. 185.

[22]) A. Windhaus u. Heß, Ebenda, S. 175.

[23]) Rosenheim u. Webster, J. Soc. Chem. Ind., 45, 832 (1926).

[24]) Pfannstiel, Med. Klinik, 1927, Nr. 49.

[25]) Kreitmair u. Moll, Münch. med. Wochenschr., 1928, S. 637/1113.

[26]) György, Klin. Wochenschr., 1930, S. 1102.

[27]) Thoenes, Jahrbuch f. Kinderheilkunde, 1930, Bd. 126.

[28]) Thoenes, Klin. Wochenschr., 1930, S. 1102.

[29]) Hertel, Zeitschrift f. allg. Physiologie, IV, 1, 1904.

[30]) Reynolds Green, Phil. Transacty Roy. Soc. 188.

[31]) Pinkussen, Biochem. Zeitschr., Bd. 128, 134, 142, 152, 161, 168, 171.

[32]) Rona u. Michaelis, Biochem. Zeitschr., 31, S. 345.

[33]) A. Windaus, Nachr. d. Gesellsch. d. Wissensch. Göttingen. Math. phys. Klasse, 1930.

[34]) F. Holtz u. E. Schreiber, Hoppe Seiler, Zeitschr. f. phys. Chem., 191, 1930.

[35]) Heubner, Nachr. d. Gesellsch. d. Wissensch. Göttingen. Math. phys. Klasse, 1930.

Lebenslauf.

Ich, Richard Schwerdt, wurde am 3. September 1905 als Sohn des Gast- und Landwirts Richard Schwerdt in Kl. Wechsungen bei Nordhausen geboren.

Nach dreijährigem Dorfschulbesuch, kam ich auf das Staatliche Gymnasium zu Nordhausen und bestand hier Ostern 1924 die Reifeprüfung.

Nachdem mein Wunsch, Marineoffizier zu werden, fehlgeschlagen war, begann ich im W.-S. 1924/25 in Göttingen das Studium der Medizin. Nach 5 Semestern bestand ich das medizinische Vorexamen. Danach studierte ich je ein Semester in Wien und Leipzig und legte nach weiteren drei Semestern in Göttingen hier das medizinische Staatsexamen ab.

Vom 1. März bis zum 31. April 1930 war ich als Praktikant an der Universitäts-Kinderklinik Göttingen, und vom 1 Mai 1930 bis zum 28. Februar 1931 war ich Praktikant auf der inneren Abteilung des Stadtkrankenhauses in Peine. Am 1. März 1931 erhielt ich die Approbation und trat als Volontärassistent in die hiesige Medizinische Klinik ein, wo ich zur Zeit noch tätig bin.

Richard Schwerdt.